UEBER DIE HISTOLOGISCHE STUDIE DES SUBKOMMISSURALORGANS DES GECKO JAPONICUS

MASAHIRO MURAKAMI, FUMIO BAN UND SABURO AIURA

*Aus dem Anatomischen Institut der Medizinischen Fakultät der
Kurume Universität (Vorstand: Prof. Dr. Y. Takeshige)*

Obgleich das unter der Commissura posterior dicht anliegende Subkommissuralorgan seit langem von manchen Autoren bei verschiedenen Wirbeltieren histologisch und phylogenetisch studiert wurde, wurde es nach Bargmann jedoch bis vierziger Jahre des Jahrhunderts noch immer als rätselhafte Bildung angesehen. In den letzten Jahren hat eine Reihe von Forschern (Bargmann und Schiebler 1952, Wislocki und Leduc 1952, 1954, Stutinsky 1953, Wingstrand 1954) mittels Gomorischer CHP (oder AFP)-Färbung und anderer histochemischen Methode eingehend untersucht und folgendermassen einige Tatsachen festgestellt, dass das Subkommissuralorgan eine gewisse Sekretionsfähigkeit hat und dass seine Sekretgranula aus Mukopolysacchariden bestehen und in den Ventrikelraum abgesondert werden. Blickt man aber diese Literatur über, kann man in Bezug auf histologische Befunde zwischen einzelnen Tierreihen einige Unterschiede leicht bemerken.

Nach Bargmann und Schiebler sollen die Sekretgranula direkt in den Ventrikelraum abgesondert werden, demgegenüber sind Wislocki und Leduc der Ansicht, dass sekretorische Substanz bei Nagetieren durch den Reissnerschen Faden in den Ventrikel ausgeschieden werde. Ausser obigen Befunden fand Okada (1955) bei *Bufo vulgaris* eine sekretorische Bahn, welche durch die Comm. post. hindurch in den Subarachnoidalraum führt. Während schon Reichold (1942) über das Subkommissuralorgan der Reptilien ziemlich eingehende Untersuchungen ausgeführt hat, haben die Verfasser vom vergleichend-histologischen Standpunkt aus Subkommissuralorgan des *Gecko jap.* untersucht und einige interessante Resultate gewonnen, welche hier mitgeteilt werden sollen.

MATERIAL UND METHODE

Als Untersuchungsmaterial dienten die Gehirne von 20 *Gecko jap.*, die im Sommer in der Umgebung von Kurume gefangen wurden.

Die meisten Gehirne wurden nach dem Enthaupten sofort entsprechend dem Zwecke in verschiedene Flüssigkeiten eingetaucht; einige Gehirne wurden teils in Bouin'scher Lösung, teils im absoluten Alkohol fixiert, beide in Paraffinserienschnitte (Dicke 8μ) zerlegt, dann wurden jener mit Halmischer AFP-Färbung, diesser mit Perijodsäure-Schiff Reaktion und zum Teil mit Holzner'scher Methode behandelt. Ein durch Trypanblau vital

gefäbtes Hirn wurde in 20%iges Neutralformol eingetaucht, in Paraffinserienschnitte von 8μ zerlegt und mit Alaunkarmin nachgefärbt. (s. The Kurume Medical Journal Vol. 3, p. 129)

Die in 10%igem Neutralformol fixierten Gehirne wurden in 30μ Gefrierschnitte zerlegt und teils mit Bielschowsky-Silbermethode nach Suzuki, teils durch Papsche Bielschowsky-Modifikation imprägniert.

Zur Darstellung der Gefäßverteilung wurde in die Herzen der Tiere die Tuschelösung mit Gelatinezusatz vital injiziert. Fixierung erfolgte in 10%igem Formol, Einbettung in Celloidin, Celloidinblöcke wurden in Serienschnitte von 40μ zerlegt und mit H. E. gefärbt.

EIGENE BEFUNDE

Das Subkommissuralorgan des Gecko jap. liegt am Unterrand der Commissura posterior, welche in den 3. Ventrikelraum stark hervorragt, und stellt vorn und hinten entsprechend der Gestalt der Comm. post. die dorsalwärts konvexe Einbuchtungen dar. Wie man die Serienschnitte beobachtet, ist die vordere zwischen dem Nucl. habenulae und dem Comm. post. gebildete Einbuchtung, Recessus pinealis, so tief, dass das Subkommissuralorgan dort vom Subarachnoidalraum nur durch die dünne Hirnsubstanz getrennt wird.

Bezüglich der Gefäßverteilung beschrieben Wislocki und Leduc (1952) bei Nagetieren die schlingenartigen oder arkadenförmigen Kapillaren, welche sich entlang der Innenfläche des Subkommissuralorgans dicht verteilen, bei Gecko jap. ist aber die Gefäßteilung im diesem Bereich sehr locker, daher ist keine innige Beziehung zwischen Kapillaren und dem Subkommissuralorgan zu bemerken. (Abb. 1)

Da auf der frontal geschnittenen Fläche das Subkommissuralorgan den hinteren Teil des 3. Ventrikels arkadenförmig umgibt, so erscheint es wie ein aus dem Ziegel gebauter Tunnel. (Abb. 2)

Die Ependymzellen des Subkommissuralorgans, deren Kerne langoval in der Gestalt sind und nahe dem basalen Teile des Zelleibs eingeschlossen werden, sind etwas grösser als die der anderen Ventrikel. (Abb. 3)

Bargmann und Schiebler teilten das Ependym des Subkommissuralorgans in zwei Gruppen, nämlich in die geißeltragende und nichttragende Zellen ein. Nach ihnen enthält diese die gomoripositive Substanz in ihrem Zytoplasma, aber jene nicht. Reichold auch berichtet bei Ratte die deutlich zu unterscheidenden Geißeln. Diesen Autoren gegenüber beschrieben Wislocki und Leduc, dass Zilien des Subkommissuralorgans bei Nagetieren undeutlich zu finden sind. Auch bei Gecko jap. sind die Zilien des betreffenden Organs undeutlich im Vergleich mit den Ependymzellen des anderen Ventrikels, so

gelang uns nicht, durch von uns hier angewandte Färbung die Zilien genau zu ergreifen. (Abb. 3)

Ueber die Innervation des Subkommissuralorgans bemerkten Bargmann und Schiebler die aus Comm. post. stammenden Nervenfasern, während Wislocki und Leduc weder die Nervenfasern noch die Nervenendigung fanden.

Bei Gecko jap. wurde betrachtet, dass die Nervenfasern, welche aus Comm. post. zu stammen scheinen, bis in den basalen Teil des Subkommissuralorgans eindringen, obwohl sie an Zahl gering waren. (Abb. 3)

Bei Anwendung der Halmischen AFP-Methode wird das Subkommissuralorgan in seinem ganzen Zytoplasma, den Kernbereich ausgenommen, mit gomoripositiver Substanz von verschiedener Grösse angefüllt. Vor allem im basalen Teil werden die Granula besonders intensiv gefärbt und die vom Zytoplasma aus überfließenden Granula decken hier den basalen Bezirk über, infolgedessen kommt die dichte Anhäufung der Granula entsprechend der direkten Umgebung des Subkommissuralorgans vor. (Abb. 2)

Bei stärkerer Vergrößerung stellen die den subnuclearen Teil anfüllenden Haufen der Granula gemäss der Gestalt des Zytoplasmas eine Pyramidenform dar. Auch im apikalen Bezirk konfluieren sie sich allmählich nach dem freien Rand, welcher infolge der Ansammlung der Granula undeutlich wird. Daher scheint uns wahrscheinlich, dass sie direkt aus dem oberen Rand in den Ventrikelraum abgesondert werden. Aber die sich im apikalen Teil befindenden Granula sind feiner in der Gestalt und weniger an Zahl als die im basalen Teil. (Abb. 4)

Unsre obigen Befunde weichen ganz von den Meinungen der meisten Forscher ab, dass die Granula nur im apikalen Teil zu finden seien. Ausserdem sind die Granula des Subkommissuralorgans auch gleichzeitig bei Holzerscher Methode mit Krystalviolett und bei Perjodsäure-Schiff-Reaktion intensive gefärbt, dabei stimmt ihr Verteilungszustand mit dem der durch AFP gefärbten Granula ganz überein.

Als chemische Zusammensetzung der Granula des Subkommissuralorgans werden bis jetzt folgende Substanzen angegeben, wie Eiweisskörperchen (Reichold), Mukopolysaccharide (Bargmann und Schiebler) und Polysaccharide, welche keine sulfatische Komponente enthalten (Wislocki und Leduc). Da wir in vorliegender Arbeit weder den Speichel-Versuch noch weitere histochemische Untersuchungen ausgeführt haben, können wir hier auf diese Frage nicht eingehen.

In Hinsicht auf die Verhältnisse zwischen diesen Granula und denjenigen der neurosekretorischen Zellen denken einige Forscher daran, dass beide Granula miteinander nicht vollkommen identisch sind, weil die Neurosekrete nach Fixierung in Bouinscher-oder Susalösung (Wislocki und Leduc) sowie im Alkohol (Mazzi) ihre Färbbarkeit verlieren.

Auch bei *Gecko jap.* zeigen die Neurosekrete nach Fixierung im Alkohol mit Krysalviolett und der Perijodsäure-Schiff-Reaktion keine positive Anfärbung mehr. Wie von Wislocki und Leduc bei Nagetieren angenommen wird, wird ausserdem das Subkommissuralorgan nicht vital gefärbt, während neurosekretorische Zellen Trypanblau aufnehmen.

Aus diesen Gründen lässt es sich vermuten, dass auch bei *Gecko jap.* einige Unterschiede zwischen beiden Granula nicht nur histochemisch, sondern auch biologisch bestehen.

Bezüglich der Frage, in welche Richtung die Granula abgegeben werden, stimmen die meisten Forscher darin überein, dass sie in den Ventrikelraum abgesondert werden, abgesehen davon, ob dabei die Granula entlang dem Reissnerschen Faden, welcher aus dem Subkommissuralorgan entspringt, laufen (Wislocki und Leduc) oder durch den freien Rand des betreffenden Organs hindurch direkt austreten (Bargmann und Schiebler). Okada (1955) beschrieb bei *Bufo vulgaris* neben Sekretion in den Ventrikel die zur dorsalen Fläche des Mittelhirnes führende Bahn und dachte daran, dass vielleicht die Granula auch von dort in den Subarachnoidalraum ausgeschieden werden dürften.

In den AFP-Präparaten haben wir, wie von Okada angenommen wurde, festgestellt, dass die aus dem basalen Teil des Subkommissuralorgans entspringenden Fortsätze, welche mit den sekretorischen Granula gefüllt werden, durch die Comm. post. hindurch in gerader Linie dorsalwärts ziehen. Diese Fortsätze werden allmählich feiner, infolgedessen in der Mitte der Comm. post. schwer verfolgbar, sie aber erscheinen nahe der dorsalen Wand des Mittelhirnes wieder deutlich, um dort mit fächerförmigen Anschwellungen zu enden. (Abb. 5)

Bei der Holzerschen Färbung befinden sich die gleichen Bilder wie bei der AFP-Methode, aber die Fasern des Subkommissuralorgans und die an dorsaler Fläche des Mittelhirnes angehäuften Granula sind etwas deutlicher als die bei AFP-Färbung zu bemerken. (Abb. 6)

Die Perijodsäure-Schiff-Reaktion zeigt die Befunde, dass sich die mit den rot gefärbten Granula gefüllten Fortsätze in die Comm. Post. erstrecken, wobei doch an der dorsalen Fläche des Mittelhirnes die Haufen der Granula nicht betrachtet werden können. (Abb. 7)

Ausser der durch Comm. post. durchpassierenden Bahn scheint das Subkommissuralorgan des Rec. pinealis durch die dünne Hirnsubstanz in den Subarachnoidalraum seine Granula zu entleeren. Es ist uns aber noch nicht gelungen, diese Bahn histologisch zu bestätigen.

Bei Anwendung der Papschen Silber-Färbung werden im Subarachnoidalraum die

reichlichen Geflechte retikulärer Fasern betrachtet, die nicht nur auf der Hirnoberfläche unmittelbar anliegen, sondern auch die Venenwand des Subarachnoidalraumes dicht umklammern, daraus vermuten wir, dass sich die an der dorsalen Wand des Mittelhirnes angesammelter Granula in diese retikulären Geflechte entleeren liessen. (Abb. 8)

Ausserdem gibt es Befunde, dass sich die mit der AFP-Methode stark gefärbten Granula dicht an Kapillaren ansammeln, die nahe dem Subkommissuralorgan vorhanden sind, so dass bei *Gecko jap.*, wie über die neurosekretorischen Zellen angenommen, die Sekretabgabe an die Gefässe zu existieren scheint, obwohl Gefässverteilung sowie Granula quantitativ weniger seien.

Auf die Quantität der Granula Rücksicht angenommen, vermuten wir aber, dass die zur dorsalen Wand des Mittelhirnes führende Bahn bei der Abgabe der Granula die Hauptrolle spielen.

Nach Bargmann und Schiebler sollen die Ependymzellen der lockeren Glia-schicht, welche dem Subkommissuralorgan unterliegen, ebenfalls gomori-positive Granula enthalten, aber bei *Gecko jap.* sind weder die dem Hypendym entsprechende Glia-schicht noch die die Granula enthaltenden Gliazellen, welche nahe dem Subkommissuralorgan zerstreut liegen, zu finden. Bei P.G.S.-Modifikation nach Mukai war es schwer, den Fortsatz des Subkommissuralorgans zu färben, während die Ependymzellen und ihre Fortsätze anderen Ventrikels intensiv tingiert werden. Daher ist es uns noch nicht gelungen, das ganze Bild des Subkommissuralorgans einschliesslich seines Fortsatzes histologisch mit Sicherheit zu erfassen.

Was den Reissnersche Faden anlangt, konnten wir ihn bei *Gecko jap.* durch die von uns in vorliegender Arbeit angewandte verschiedene Methode nirgends nachweisen.

ZUSAMMENFASSUNG

In vorliegender Arbeit haben die Verfasser über das Subkommissuralorgan von *Gecko jap.* die histologischen und histochemischen Untersuchungen angestellt und zusammenfassend die folgende Resultate gewonnen.

Die Ependymzellen des Subkommissuralorgans enthalten in ihrem Zytoplasma die mit der AFP-Färbung intensiv gefärbten Granula, welche gleichzeitig bei Anwendung der Holtzerschen Methode mit Krystalviolett stark tingiert werden und die positive Perijodsäure-Schiff-Reaktion geben. Diese Granula befinden sich in subnuclearen Abschnitten besonders zahlreich und bilden am sämtlichen basalen Rand des genannten Organs gürtelartige Anhäufung.

Dorsalwärts entspringen die Fortsätze, welche die Granula tragen, vom basalen Teil aus und ziehen durch Comm. post. hindurch zur dorsalen Wand des Mittelhirnes, um

schliesslich dort mit fächerförmigem Fusse zu enden.

Daher scheint uns bei Gecko jap. neben der Abgabe in den Ventrikelraum sowie in die Kapillaren die Abgabe in den Subarachnoidalraum vorzukommen.

Bezüglich chemischer Zusammensetzung finden sich zwischen dem Neurosekret des Zwischenhirnes und den Granula des Subkommissuralorgans einige Unterschiede deswegen, weil jenes beim mit Alkohol fixierten Präparat ihre Färbbarkeit verliert. Den Reissnerschen Faden konnten wir bei Gecko jap. nirgendwo nachweisen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. W. BARGMANN: Die Epiphysis cerebri; Handbuch d. mikroskopischen Anatomie d. Mensch., VI—4, 334—337, 1943.
2. W. BARGMAN UND H. SCHIEBLER: Histologische und cytochemische Untersuchungen am Subkommissuralorgan von Säugern, Z. Zellforsch., Bd. 37, 583—596, 1952.
3. MAZZI, V.: Arch. zool. Ital. 37 (1952). zit. nach Okada.
4. M. OKADA: On the secretory pathway of the subcommissuralorgan, Arch. hist. jap. Vol. 9, 199—204, 1955.
5. REICHOLD, S.: Untersuchungen über die Morphologie des subfornikalen und des subkommissuralen Organs bei Säugetieren und Sauropsiden. Z. mikrosk.-anat. Forsch., 52, 455—479, 1942. zit. nach Bargmann und Schiebler.
6. F. STUTINSKY: La neurosécrétion chez l'anguille normale et hypophysectomisée. Z. Zellforsch., Bd. 39, 276—297, 1953.
7. WINGSTRAND K. G.: The ontogeny of the neurosecretory system in chick embryos. Publ. Staz. zool. Napoli. 24 (Suppl.) 1954, zit. nach Okada.
8. G. B. WISLOCKI AND E. H. LEDUC: The cytology on the subcommissural organ, Reissner's fiber, periventricular gliacells and posterior collicular recess of the rat's brain, J. comp. neur. Vol. 101. 283—309, 1954.
9. G. B. WISLOCKI AND E. H. LEDUC: The cytology and histochemistry of the subcommissural organ and Reissner's fiber in rodents, J. comp. neur. Vol. 97, 515—543, 1952. Nach dem Schluss unsrer Arbeit haben wir folgende 2 Literaturen erhalten.
1. A. OKSCHE: Funktionelle histologische Untersuchungen über die Organe des Zwischenhirndaches der Chordaten. Anat. Anz., Bd. 102, 404—419, 1956.
2. G. J. GILBERT: The subcommissural organ. Anat. Rec., Vol. 126, 253—265, 1956.

Abb. 1. Sagittalschnitt durch Subkommissuralorgan. So; Subkommissuralorgan. Nh; Nucleus habenulae. Ch; Commissura habenularum. To; Tectum opticum. G; Gefässe. 3V; 3. Ventrikel.

Tuscheinjektion, 10% Formol, Celloidin, 40μ , Ok. 5, Obj. 10. Mikrophotographie.

Abb. 2. Frontalschnitt des Subkommissuralorgans. Die Haufen der Granula umgeben den äusseren Rand des Subkommissuralorgans, dessen Fortsatz dorsalwärts zieht. Cp; Commissura posterior. So; Subkommissuralorgan. K; Kapillaren, an deren Wand die Granula sich ansammeln. F; Fortsatz des Subkommissuralorgans. Sar; Subarachnoidalraum. 3V; 3. Ventrikel.

Bouin, Paraffin, 8μ , AFP-Färbung, Ok. 10, Obj. 40. MikroPhotographie

Abb. 3. Ependymzellen des Subkommissuralorgans und Nervenfasern (N), die sich bis in basalen Teil des Subkommissuralorgans erstrecken. GK; Kern der Gliazellen. Ks; Kern des Subkommissuralorgans. C; Es scheint Zilien zu sein, aber undeutlich. Nc; Nervenfasern der Commissura posterior. 3V; 3. Ventrikel.

20% Formol, frontaler Gefrierschnitt, 30μ , Bielschowsky's-Modifikation nach Suzuki, Ok. 5, Obj. öl. 100. Mikrophotographie.

Abb. 4. Ausschnitt aus Abb. 2. Granula im Ependym des Subkommissuralorgans. Granula sind im basalen Teil dichter als im apikalen Teil. K; Kern des Ependyms. Vs; Ventrikelseite. Pfh; Pyramidenförmige Haufen der Granula. Bouin, Paraffin, 8μ , AFP-Färbung, Ok. 5, Obj. öl. 100. Mikrophotographie.

Abb. 5. Ausschnitt aus Abb. 4. Fächerförmige Endanschwellung (E) der Fasern des Subkommissuralorgans an der dorsalen Fläche des Mittelhirnes. V; Venen im Subarachnoidalraum. F, die Sekret tragenden Fasern.

Bouin, Paraffin, 8μ , AFP-Färbung, Ok. 5, Obj. öl. 100. Mikrophotographie.

Abb. 6. Der mit Krystalviolett gefärbte Schnitt des Subkommissuralorgans und seines Fortsatzes. S; Subarachnoidalraum. G; Gliazellen in der Comm. post. Se; Sekret an der dorsalen Fläche des Mittelhirnes. H; Haufen der Granula im basalen Teil des Subkommissuralorgans.

Alkohol, Paraffin, 8μ , Frontalschnitt, Ok. 10, Obj. 40. Mikrophotographie.

Abb. 7. Der mit PAS behandelte Sagittalschnitt des basalen Teiles des Subkommissuralorgans. So; Subkommissuralorgan. Cp; Commissura posterior. Fo; Der rot gefärbte Fortsatz des Subkommissuralorgans. Alkohol, Paraffin, 8μ Ok. 10, Obj. 40. Mikrophotgraphie.

Abb. 8. Geflecht der retikulären Fasern im Subarachnoidalraum. R; Retikuläre Fasern. Bk; Blutkörperchen in der Vene Sar; Subarachnoidalraum. Df; dorsale Fläche des Mittelhirnes. Cp; Commissura posterior. Sb; Subkommissuralorgan.

Gefrierschnitt, frontal, 40μ , Ok. 10, Obj. 40, Mikrophotgraphie.